

Aus der Urologischen Klinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof.Dr.med.R.Hohenfellner

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TRANSPLANTATION VON MENSCHLICHEM
PROSTATADENOMGEWEBE AUF NEONATALE RATTEN MIT
IMMUNSUPPRESSION DURCH HETEROLOGES ANTILYMPHOZYTENSERUM

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors
der Zahnheilkunde
der hohen medizinischen Fakultät der
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT

MAINZ

vorgelegt von

Erbe Rupp
aus Wittlich

MAINZ 1973

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554413_0028

Aus der Urologischen Klinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof.Dr.med.R.Hohenfellner

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TRANSPLANTATION VON MENSCHLICHEM
PROSTATADENOMGEWEBE AUF NEONATALE RATTEN MIT
IMMUNSUPPRESSION DURCH HETEROLOGES ANTILYMPHOZYTENSERUM

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors
der Zahnheilkunde
der hohen medizinischen Fakultät der
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT
MAINZ

vorgelegt von
Erbo Rupp
aus Wittlich
MAINZ 1973

Fachbereichsdekan: Prof.Dr.H.Langendorf

Referent: Prof.Dr.F.Orestano

Korreferent: Prof.Dr.R.Hohenfellner



Tag der mündlichen Prüfung

29.Jan.1975

A	EINLEITUNG	1
B	GESCHICHTLICHES	3
	I. Tumortransplantation	3
	II. Antilymphozytenserum	5
C	MÖGLICHKEITEN DER WIRTSKONDITIONIERUNG	8
	I. Röntgenbestrahlung	8
	II. Cortison	9
	III. Zytostatika	10
	IV. Thymektomie	10
	V. Induktion einer Immuntoleranz	13
	VI. Antilymphozytenserum (ALS)	13
D	EIGENE VERSUCHE	14
	I. Material und Methode	14
	1. Herstellung des ALS	14
	a) Gewinnung der Lymphozyten	14
	b) Immunisierungsweise	16
	c) Verarbeitung und Testung des Serums	16
	2. Transplantation und Behandlung der Tiere	18
	a) Auswahl der Versuchstiere	18
	b) Aufteilung und Versuchsdauer	18
	c) Gewebebehandlung	19
	d) Transplantation	19
	e) Postoperative Behandlung	20
	f) Extirpation	20
	g) Histologische Untersuchung	21

II.	STATISTISCHE VERFAHREN	22
III.	ERGEBNISSE	23
	1. Sterblichkeitsquote	23
	2. Gewichtsvorhalten	25
	3. Histologie und Angehrte	25
	4. Prüfung auf unterschiedliches "Angehen"	32
E	DISCUSSION	41
F	ZUSAMMENFASSUNG	49
G	LITERATURVERZEICHNIS	52
H	LEBENS LAUF	74

A EINLEITUNG

Die Transplantation galt in vergangenen Jahrhunderten als Kunst der Heiligen. So gibt es beispielsweise zahlreiche Darstellungen der Ärzte KOSMAS und DAMIANUS, wie sie einem Aussätzigen während des Schlafs ein krankes Bein abnehmen und durch das gesunde eines soeben Verstorbenen ersetzen. Heute ist die Übertragung fremder Gewebe zur Wissenschaft geworden.

Auch in der Tumorforschung hat man schon sehr früh damit begonnen, menschliches Tumorgewebe außerhalb des menschlichen Organismus zum Überleben zu bringen, um das Wesen einer Geschwulst und dessen Beziehung zum Wirt besser studieren zu können. Die Transplantation von solchen Geweben auf eine andere Spezies bietet dazu eine Möglichkeit, da es moralisch-ethische Gründe verbieten mit Tumoren am kranken Menschen zu experimentieren.

Bei der Transplantation fremder Gewebe tritt jedoch, von einer einzigen Ausnahme abgesehen, nämlich bei eineiigen Zwillingen untereinander, ein Problem auf, das bis heute nicht gelöst ist: die Abstoßungsreaktion. Heute weiß man, daß das Immunsystem für diese Abstoßung verantwortlich ist.

Überträgt man ein Stückchen Gewebe von einem Tier einer bestimmten Spezies auf ein anderes mit dem Spendertier genetisch nicht identischen Individuums, so wird das Transplantat nach kurzer Zeit abgestoßen. Diese "host-versus-graft" Reaktion ist in erster Linie ein

zellulärer Prozeß, während das humorale Immunsystem hierbei nur eine untergeordnete Rolle spielt. Verantwortlich dafür ist der immunkompetente Lymphozyt. Ausgelöst wird diese Reaktion durch individualspezifische Strukturen (Transplantationsantigene oder Histokompatibilitätsantigene) auf den Oberflächen transplantierte Zellen. Sie sind nicht ausschließlich dort lokalisiert, aber funktionell entscheidend und werden durch eine Vielzahl genetischer Systeme determiniert. Neben diesen individualspezifischen H-Antigenen konnten in den letzten Jahren an vielen experimentell erzeugten Geschwülsten tumorspezifische Antigene (Tumor- oder Neoantigene) an den maligne entarteten Zellen nachgewiesen werden. Während bei der Transplantationsimmunologie das Interesse der Transplantaterhaltung gilt, wird bei der Tumorummunologie danach getrachtet, das Transplantat (= Tumor) abzustößen.

G E S C H I C H T L I C H E S

Versuche der heterologen Transplantation humaner Tumorgewebe in verschiedene Wirtstiere kann man bis zum Anfang der experimentellen Tumorforschung zurückverfolgen. Auch Experimente mit einem Antilymphozytenserum (ALS) begannen schon am Ende des vorigen Jahrhunderts.

I. Tumortransplantation

Schon 1775 berichtete PEYRILHE über die Transplantation eines menschlichen Tumors auf einen Hund. Aus heutiger Sicht muß man allerdings diesen "Tumor", der im Hund weitergewachsen sein soll, eher als ein eitriges Geschwür ansehen, das damals ohne Mikroskop und histologische Technik nicht von einem bösartigen Tumor zu unterscheiden war. LANGENBECK injizierte 1840 in die Vene eines Hundes die Suspension einer menschlichen Knochengeschwulst. Zwei Monate später fanden sich zahlreiche runde Knoten in der Lunge. VIRCHOW, der die Zeichnungen dieser Tumoren gesehen hat, hielt sie jedoch mehr für ein Spontankarzinom des Hundes als für ein menschliches Tumorgewebe. Nachdem schon van DOOREMAL 1873 als erster die vordere Augenkammer für Gewebstransplantationen vorschlug, transplantierte 11 Jahre später ZAHN ein menschliches Enchondrom in die vordere Augenkammer eines Kaninchens. Jedoch gelang es ihm nicht, Tumorstadium nachzuweisen. KLEBS untersuchte 1890 Fragmente eines mensch-

lichen Karzinoms, daß er in die Peritonealhöhle weißer Ratten gebracht hatte, in verschiedenen Zeitabständen nach der Injektion. Er fand, daß die epithelialen Strukturen des Transplantates schon nach 3 Tagen verschwunden waren. Weitere mißlungene Transplantationsversuche stammen 1892 von DUPLAY und CAZIN mit der Übertragung menschlichen Tumormaterials in verschiedene Arten von Laboratoriumstieren. (118)

EHRLICH setzte am Anfang unseres Jahrhunderts die Übertragung tierischer Tumoren auf Tiere fort. Die Heterotransplantation menschlicher Tumore geriet danach - nicht zuletzt im Wissen um die prinzipiellen immunologischen Schwierigkeiten - etwas in Vergessenheit. MURPHY berichtet 1914 über das erfolgreiche Wachstum des Ehrlich-Müsesarkoms in Ratten, die er vorher einer Röntgenbestrahlung ausgesetzt hatte. (47)

Erst 1938 gelang es GREENE (40), Material von menschlichen Adenomen und Adenokarzinomen des Uterus in der vorderen Augenkammer des Kaninchens zu züchten und diesen Tumor über mehrere Generationen fortzupflanzen. Von 1951 an nahm TOOLAN (113 - 116) die Versuche mit der Röntgenvorbestrahlung der Wirtstiere wieder auf, teilweise unter zusätzlicher Behandlung mit Cortison. Sie erreichte auf diese Weise erfolgreiche, längerdauernde Transplantationen menschlicher Tumoren in vorbehandelten Ratten und Hamstern. Etwa zur gleichen Zeit konnten Händler et al. (44), Hoch-Ligetti und Hsü (49) und Sommers

et al. (102) Tumorgewebe erfolgreich transplantieren. In neuester Zeit befassen sich zahlreiche Autoren im Rahmen der Tumorforschung mit der Transplantation von Geweben auf vorbehandelte Wirtstiere, unter anderem auch SENGE et. al. (96) der 1970 mit Hilfe von ALS Prostataadenomgewebe mit einigem Erfolg transplantieren konnte.

II. Antilymphozytenserum

METCHNIKOFF (71) injizierte im Jahre 1899 Zellen aus Milz und Lymphknoten von Meerschweinchen und Ratten in Kaninchen und beobachtete einen zytotoxischen Effekt und Agglutination einer solchen Zellsuspension, wenn diese später den Sera der immunisierten Kaninchen ausgesetzt wurde. BESREDKA (94) fand 1900, daß mit dem Antiserum von METCHNIKOFF in vivo eine Leukopenie hervorgerufen werden konnte. Das Serum erwies sich als sehr toxisch. Kurze Zeit später kamen FLEXNER und RICKETT 1902, BUNTING 1903 und CHRISTIAN 1905 bei ihren Studien mit Geweben des lymphatischen Systems zu ähnlichen Ergebnissen. (aus 94)

FLEXNER stellte bei seinen Versuchen mit dem Antiserum sowohl eine Hyperplasie als auch eine Hypoplasie sowie verschiedene Grade von Zelltod, besonders in den Keimzentren der Lymphknoten, fest. PAPPENHEIMER (79) berichtete 1917, daß in seinem Antiserum vom Kaninchen, das gegen den Thymus von Ratten und Zellen der

menschlichen Tonsillen gerichtet war, ein hämolytischer Faktor vorhanden war. Er konnte diesen durch Absorption mit den entsprechenden Zellen beseitigen. CHEN und LAWRENCE (19) berichteten 1937, daß sie Sera herstellen könnten, die hauptsächlich gegen Granulozyten oder Lymphozyten gerichtet seien, und daß dies nur abhängig sei von der Auswahl der Zellen, die zur Sensibilisierung benützt wurden. Sie konnten beim Meerschweinchen, das täglich mit solch einem Antiserum behandelt wurde, eine Lymphopenie über 10 Tage aufrechterhalten. Auch CRUIKSHANK (20) erreichte 1941 bei seinen Versuchen eine längerdauernde Lymphopenie. WOODRUFF und ANDERSON (120) gelang 1951 durch Behandlung von Ratten mit ALS eine Verlängerung der Überlebenszeit von Hauttransplantaten. Eine Reduktion der verschiedenen immunologischen Reaktionen, die bei Behandlung der Meerschweinchen mit ALS folgte, beobachteten WAKSMAN et al. 1961 (aus 94). Die humorale und zelluläre Antwort wurde herabgesetzt, und die Überlebenszeit eines Hauttransplantates wurde um etwa 2 Tage verlängert. SACHS, FILLIPONE und HUME (95) konnten 1964 einen Lymphozytenabfall auf 25 % der Norm bei der Ratte über einen Zeitraum von 21 Tagen bei Verwendung ihres ALS aufrechterhalten. Die Herstellung und zum Teil erfolgreiche Anwendung von ALS bei der Transplantation von Organen und Geweben versuchten in neuester Zeit PICHLMAYR (86) 1966 und SENGE (96) im

Jahre 1970. Eine generell erfolgreiche Transplantation mit ALS als Immunsuppressivum wurde bisher jedoch noch nicht erreicht.

MÖGLICHKEITEN DER WIRTSKONDITIONIERUNG

Da man schon seit langem weiß, daß eine Heterotransplantation, daß heißt die Übertragung von Geweben einer fremden Spezies auf eine andere, ohne Unterdrückung des Immunsystems (Immunsuppression) oder gar totale Ausschaltung (Immundepression) im allgemeinen nicht möglich ist, (Ausnahmen: Standart-Tumoren) hat man schon früh nach Mitteln und Wegen gesucht, dieses System in seiner Abwehr zu beeinträchtigen. Einige Möglichkeiten sollen nun kurz besprochen werden.

I. Röntgenbestrahlung

Am Ältesten ist wohl die Röntgenganzkörperbestrahlung. Bereits 1915 hat HECTOEN (46) die direkte destruktive Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Gewebe des lymphatischen und myeloischen System beschrieben. Er berichtet, daß zuerst die Lymphknoten und die Milz und dann die Lymphknoten des Thymus betroffen würden. Die Zellen würden durch Nekrose mit Kernfragmentation zugrunde gehen. Es erfolgt keine merkliche Beeinflussung des gesundheitlichen Allgemeinzustandes, wenn die Röntgenbestrahlung langsam einsetzt und der Prozess schrittweise abläuft. Das Ergebnis ist eine Leukopenie mit Mangel an Antikörpern. Am Ende allerdings steht das

Postbestrahlungssyndrom mit der Zerfallskrankheit, (wasting-desease). SCHMÄHL und STUTZ (104) erkannten bei ihren Versuchen eine direkte Abhängigkeit der Tumorangehrate von der Strahlendosis. TOOLAN (114) konnte menschliche Tumore erfolgreich in röntgenbestrahlte Labortiere transplantieren.

II. Cortison

Auch Cortison oder ein Derivat desselben kann man als Immunsuppressivum verwenden. TOOLAN (116) konnte in mit Cortison behandelten Wirtstieren erfolgreich menschliche Tumore zum Wachstum bringen. PATTERSON et al. (77) transplantierten mit Hilfe von Cortison menschliche Tumore mit recht gutem Erfolg auf Goldhamster.

KUSCHINSKY und LÜLLMANN (61) schreiben über das Hydrocortison unter anderem folgendes: Hydrocortison hemmt die Tätigkeit des lymphatischen Gewebes. Infolgedessen kommt es zu Lymphopenie und Verkleinerung der Lymphknoten. Auch der für die Bildung der spezifischen individuellen Eiweißkörper wichtige Thymus wird bei längerer Zufuhr atrophisch. Antikörperbildung und Ag-Ak-Reaktionen werden nach hohen Dosen ebenfalls reduziert. Ferner werden durch Hydrocortison das Wachstum und alle Reaktionen des mesenchymalen Systems gehemmt. Die bei Entzündungen ablaufende Freisetzung von zytotoxischen Enzymen aus den intrazellulären Lysosomen wird verhindert.

III. Zytostatika

Als eine weitere Gruppe zur Erreichung einer Immunsuppression sind die Zytostatika zu nennen. Sie hemmen die Proliferationsfähigkeit der immunkompetenten Zellen. In diesem Zusammenhang muß aber darauf hingewiesen werden, daß gerade diese Gruppe ein zweiseitiges Schwert darstellt. Denn diese Stoffgruppe wird in der Humanmedizin ja gerade zur Vernichtung von Neoplasmen eingesetzt. So werden also in der Transplantations- und Tumorummunologie mit ein und demselben Mittel geradezu reziproke Ziele verfolgt. Wenn ein Zytostatikum auch das Immunsystem schädigt, kann die Entstehung von Tumoren geradezu begünstigt werden.

IV. Thymektomie

Wir wissen heute, daß der Thymus eine zentrale Rolle für die Entwicklung der lymphatischen Organe spielt. Darauf verweisen viele Autoren, unter anderem ADNER et al. (2), ARNASON et al. (9), ARCHER et al. (8), SEVERI (97) und andere mehr. So kann man durch die Thymektomie neugeborener Tiere eine Einheilung fremder Transplantate erreichen. Die beiden folgenden Auszüge aus einem Referat von PERLICK, ARNDT und HELBIG (81) sollen dies näher erläutern:

Nach neonataler Thymektomie resultiert nicht nur eine Atrophie des lymphatischen Systems, son-

dern es kommt auch zu einer dauernden Beeinträchtigung der normalen Immunität. So können Mäuse, denen bei Geburt der Thymus entfernt wurde, Hauthomotransplantate bis zu ihrem frühen Tod infolge des Wasting-Syndroms nicht abstoßen, und teilweise heilen sogar Heterotransplantate lebenslänglich ein. Darüber hinaus lösen die lymphatischen Zellen neonatal thymektomierter Tiere eine viel schwächere "Graft-versus-Host" - Reaktion (Transplantat-anti-Wirtsreaktion) aus und zeigen zum Teil eine Verminderung bzw. Aufhebung der allergischen Spätreaktion. Trotz annähernd normaler Gamma-Globulinwerte im Serum ist die humorale Antikörperproduktion der thymektomierten Tiere oft gestört. Auf manche Antigene reagieren die Tiere zwar mit einer normalen spezifischen Antikörperproduktion, aber andere Fremdsbstanzen werden offenbar nicht als solche erkannt, so daß die spezifische Immunantwort ausbleibt.

Das immunologische Versagen neonatal thymektomierter Tiere ist nicht allein durch die Verarmung des Organismus an Lymphozyten zu erklären, sondern auch auf eine immunologische Minderwertigkeit der lymphatischen Elemente in Abwesenheit des Thymus zurückzuführen. Die Autoren halten es für wahrscheinlich, daß der Thymus Zellen mit immunologischen Potential in immunologisch kompetente Zellen verwandelt. Auf welche Weise dies geschieht, ist nach wie vor unklar. Folgende Möglichkeiten werden von MILLER und DUKOR (1964) in

Betrachtet gezogen:

1. Ein humoraler Thymusfaktor steuert die Reifung des "Antigen-Erkennungsvermögens" des Organismus. Falls sich diese Hypothese bestätigen sollte, wären lymphatische Zellen eines bei Geburt thymektomierten Tieres aufgrund ihrer Unreife bzw. fehlenden immunologischen Kompetenz nicht in der Lage, zwischen "selbst" und "nichtselbst" zu unterscheiden, und der Verlust der normalen Immunität hätte eine gute Erklärung gefunden.
2. Nach den elektiven Theorien von Immunität und Toleranz kann Antigen-Kontakt einer Zelle in einem bestimmten Differenzierungsstadium zur Lähmung ihrer immunologischen Potenz gegenüber dem Antigen führen. Kontakt der reifen Zelle mit dem Antigen hingegen würde selektiv ihre klonale Expansion induzieren. Der vom Fremdantigen-Zutritt anscheinend abgeschirmte Thymus wäre der ideale Ort für die Differenzierung und die gleichmäßige, nichtklonale Vermehrung von Zellen mit immunologischem Potential. Die einzigen im Thymus vorhandenen Antigene sind normale Körperbestandteile. Die mit ihnen reagierenden Zellklone würden somit am Ort ihrer Bildung unterdrückt oder inaktiviert, und die den Thymus verlassenden Lymphozyten wären dann nur solche, die nicht mit immunologischer Aktivität gegen "selbst" begabt sind. (PERLICK und MITARBEITER)

V. Induktion einer Immuntoleranz

Eine andere Möglichkeit, Fremdtransplantate zum Einheilen zu bringen, erreicht man durch eine induzierte Immuntoleranz. Bringt man einen neugeborenen Organismus über längere Zeit mit kleinsten Dosen fremder Determinanten in Berührung, so antwortet die immunkompetenten Zellen nicht mit Immunität, sondern mit Toleranz. Der Organismus verliert die Fähigkeit, die fremden Determinanten der Antigene als individualfremd zu erkennen.

VI. Antilymphozytenserum

Das zur Zeit wohl am meisten erfolgversprechende Immunsuppressivum dürfte das ALS sein. Es hat von allen Immunsuppressiva die größte Spezifität. Es muß aber betont werden, daß es auch mit einigen anderen Zellarten reagiert, weil vielleicht eine Determinantenähnlichkeit besteht. Als Wirkungsmechanismus gibt MEDAWAR (70) das "blindfolding" an. Darunter versteht man, daß die Antikörper des ALS mit den Determinanten auf der Oberfläche der Lymphozyten reagieren und diese so ganz beladen. Dadurch sollen diese Lymphozyten fremde Antigene nicht mehr erkennen können. NAGAYA und SIEKER (76) stellten die Hypothese auf, daß das ALS mit dem schon erwähnten humoralen Thymusfaktor reagiert und so die Heranreifung

immunkompetenter Zellen verhindert. Auch ein direkt tötender Effekt der Lymphozyten durch das ALS wird diskutiert.

D E I G E N E V E R S U C H E

I. Material und Methode

In der nun folgenden Arbeit sollte versucht werden, ob es mit einer suffizienten immunsuppressiven Behandlung alleine gelingt, menschliches Tumorgewebe heterolog zu transplantieren, um dann Untersuchungen in vivo über das biologische Verhalten des Tumorgewebes durchzuführen. Als Immunsuppressivum wurde ALS gewählt, das nach MEDAWAR (70) "the most powerfull, least toxic and only true immunsuppressive agent" ist. Als Tumore wurden durch transvesikale Prostataektomie entfernte Prostatadenome verwendet.

1) Herstellung des ALS

a) Gewinnung der Rattenlymphozyten.

Zur Gewinnung der Lymphozyten wurden die Milzen von erwachsenen weißen Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts verwendet. Die Milzen wurden nach Tötung der Ratten mit Äther entnommen und eisgekühlt in einer Petrischale mit Basal Medium Eagle (BME) aufbewahrt.

Um genügend Lymphozyten zur einmaligen Immunisierung von 2 Kaninchen zu gewinnen, waren zwischen 10 und 15 Milzen nötig. Die Milzen wurden dann mit einer Kanüle Nr 1 mehrmals mit eisgekühlter BME perfundiert, so daß die Lymphozyten ausgespült wurden. Das Perfusat wurde darauf in mehreren Zentrifugenröhrchen gesammelt und 10 min. lang bei 2000 U/min. abzentrifugiert. Danach wurde mit einer Pasteurpipette die überstehende Flüssigkeit abgesaugt. Die abzentrifugierten festen Bestandteile (in der Hauptsache Lymphozyten, aber auch Erythrozyten und in geringerem Umfang andere in der Milz befindliche Zellarten, die bei der Perfusion unvermeidbar mitausgeschwemmt wurden) wurden mit NH_4Cl und Trispuffer im Verhältnis 10:1 auf das ursprüngliche Volumen resuspendiert und im Wasserbad von 37° 10 min. lang inkubiert. Der Trispuffer wurde vorher auf einen pH-Wert von 7,2 - 7,4 mit Hilfe von Essigsäure eingestellt. Nach der Inkubation wurde abermals 10 min. lang bei 2000 U/min. abzentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde dann mit einer Pasteurpipette abgesaugt. Die abzentrifugierten Lymphozyten wurden dann mit 4 ml eisgekühlter BME resuspendiert. Dieses Volumen wurde in zwei Portionen zu je 2 ml geteilt, um damit gleichzeitig zwei Kaninchen immunisieren zu können. Ein Tropfen der Suspension wurde benötigt, um damit mit Hilfe einer Thoma-Zählkammer, die Gesamtzahl der Lymphozyten zu bestimmen, die in 2 ml Suspension enthalten sind.

Die Zellzahl schwankte zwischen etwa 50 Millionen und 150 Millionen.

b) Immunisierung der Kaninchen.

Zur Immunisierung wurden etwa 3 kg schwere weiße Neuseeländer-Kaninchen verwendet. Es wurden jeweils zwei Kaninchen zur selben Zeit, insgesamt 4 Stück immunisiert. Die Kaninchen erhielten wöchentlich - vier Wochen lang - eine Injektion von 2 ml der vorher beschriebenen Lymphozytensuspension. Die erste Injektion erfolgte intravenös, die drei folgenden intraperitoneal. Ein Adjuvans wurde nicht gegeben. Eine Woche nach der letzten Injektion wurden einige ml Blut aus der Ohrvene entnommen und der Agglutinationstiter zuerst makroskopisch, und dann mikroskopisch bestimmt. Da dieser bei allen Kaninchen 1:512 und höher lag, wurden sie noch am selben Tag durch Kanülierung der Vena jugularis entblutet und das Serum abzentrifugiert.

c) Weitere Verarbeitung und Testung des Serums.

Das Serum wurde dann 30 min. lang im Wasserbad bei 57° inaktiviert. Danach wurde der Erythrozytenagglutinationstiter bestimmt. Da dieser bei allen Kaninchen höher als 1 : 16 lag, mußte das Serum zur Vermeidung einer tödlichen intravasalen Hämolyse gegen die Rattenerythrozyten absorbiert werden. Dazu wurde Citratblut durch Herzpunktion von erwachsenen Ratten gewonnen und die Erythrozyten abzentrifugiert. Diese

Tab. 1: Lymphknotenanzahl pro Woche und Kaninchen.

Lymphknotenanzahl (L.A.T.), Erythrozytenagglutinationstiter (E.A.Z.) und Cytotoxizitätstest (C.T.T.)

Kaninchen Nr.	1	2	3	4
Zellzahl 1. Woche	$\approx 5 \cdot 10^7$	$\approx 5 \cdot 10^7$	$\approx 15 \cdot 10^7$	$\approx 15 \cdot 10^7$
" 2. "	$\approx 8 \cdot 10^7$	$\approx 8 \cdot 10^7$	$\approx 7 \cdot 10^7$	$\approx 7 \cdot 10^7$
" 3. "	$\approx 7 \cdot 10^7$	$\approx 7 \cdot 10^7$	$\approx 13 \cdot 10^7$	$\approx 13 \cdot 10^7$
" 4. "	$\approx 9 \cdot 10^7$	$\approx 9 \cdot 10^7$	$\approx 8 \cdot 10^7$	$\approx 8 \cdot 10^7$
gesamt:	$\approx 25 \cdot 10^7$	$\approx 25 \cdot 10^7$	$\approx 43 \cdot 10^7$	$\approx 43 \cdot 10^7$
L.A.T.	1:512	1:512	1:1024	1: 1024
E.A.T.	1: 64	1: 32	1: 128	1: 256
C.T.T. (Kontrolle) vital Zellen in %	4 %	6 %	4 %	7 %
C.T.T. avital Zellen in %	14 %	16 %	19 %	23 %

wurden dann dreimal in physiologischer NaCl gewaschen. Darauf wurde das Serum mit demselben Volumen gewaschener Erythrozyten gut gemischt und zwei Stunden lang im Wasserbad von 37° inkubiert. Nach dem Abzentrifugieren der Erythrozyten wurde abermals der Erythrozyten- und Lymphagglutinationstiter makroskopisch und mikroskopisch bestimmt. Ersterer war nach der Absorption bei den Sera aller vier Kaninchen 1:0, während der Lymphagglutinationstiter nicht verändert wurde. Danach wurde der Lymphozytotoxizitätstest mit Trypanblau durchgeführt, der ebenfalls positiv verlief. Genaue Daten zeigt die Tabelle Nr. 1. Zum Schluß wurden die Sera aller vier Kaninchen gepoolt, in kleine Portionen von 1 ml abgeteilt und bei -24° tiefgefroren bis zum Verbrauch gelagert.

2. Transplantation und Behandlung der Versuchstiere.

a) Auswahl der Versuchstiere.

Zur Transplantation wurden neonatale weiße Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts, die nicht älter als einen Tag waren, ausgesucht. Diese hatten ein Gewicht von etwa 5 g. Tiere dieses Alters wurden gewählt, weil zu diesem Zeitpunkt das Immunsystem noch nicht ausgebildet ist, und daher mit Hilfe von ALS eine größere Angehrate der Tumoren zu erwarten ist als bei erwachsenen Tieren.

b) Aufteilung und Versuchsdauer.

Es wurden zusammen zwölf Würfe neonataler Ratten zur

Transplantation benutzt und in zwei Gruppen zu je sechs Würfen aufgeteilt. Bei den Würfen 1 - 6 (entspricht Versuchsgruppe I a mit ALS-Behandlung bzw. I b als Kontrolle) wurde eine Implantationsdauer von 7 Tagen und bei den Würfen 7 - 12 (entspricht Versuchsgruppe II a mit ALS-Behandlung bzw. II b als Kontrolle) eine Dauer von 14 Tagen gewählt. Jeder Wurf bestand aus dreizehn Tieren, von denen fünf Tiere als Kontrolle ohne ALS-Behandlung dienten. Insgesamt wurde Gewebe von zwölf verschiedenen Prostataadenomen transplantiert.

c) Gewebebehandlung.

Das Adenomgewebe wurde unmittelbar nach der Prostat-ektomie in eisgekühlter physiologischer NaCl-Lösung gewaschen. Es wurde in kleine Würfel von etwa 2 - 3 mm Kantenlänge zerkleinert und bis zur kurz darauffolgenden Implantation in kalter physiologischer NaCl aufbewahrt.

d) Transplantation.

Die Tiere wurden 20 min. lang bei -4° gehalten und dann in Hypothermie operiert. Als Implantationsort wurde die Oberschenkelmuskulatur gewählt. Dazu wurde in der Höhe des linken hinteren Oberschenkels ein Hautschnitt von etwa 7 mm Länge gelegt. Dann wurde die darunterliegende Muskulatur vorsichtig gespalten und auseinandergedrängt, und das Tumorstückchen darin

versenkt. Eine Muskelnäht war wegen der Spannung des Muskels in der Regel nicht nötig, um das Tumorstückchen an seinem vorgeschriebenen Platz zu halten. Es wurde jedoch streng darauf geachtet, daß während der Operation keine Blutung auftrat, die durch Bildung von Koageln die Vaskularisierung des Tumors hätte verhindern können. Danach wurde der Hautschnitt mit einer Naht verschlossen und die Tiere zurück zu dem Muttertier in den Käfig gesetzt.

e) Postoperative Behandlung.

Die Tiere bekamen täglich 0,1 ml ALS intraperitoneal vom Tage der Transplantation an bis einen Tag vor der Extirpation des Gewebes. Dieses mußte sehr vorsichtig und langsam geschehen, da sonst die Gefahr bestand, daß wegen des hohen intraperitonealen Drucks von Neugeborenen ein Teil des Serums aus dem Stichkanal herausgepreßt wurde. Außerdem wurden die Tiere am Tag der Transplantation, dann jeden dritten Tag und am Tag der Extirpation gewogen. Tiere, die vor Ende der Versuchsdauer ad exitum kamen, wurden gewogen, aber der Tumor nicht reseziert. Eine Antibiotikatherapie wurde nicht durchgeführt.

f) Extirpation.

Am 8. bzw. 15. Tag nach der Transplantation wurde das Gewebe extirpiert und in Formalin fixiert, nachdem die

Tiere durch Äther getötet wurden.

g) Histologische Untersuchung

Von den resezierten Gewebe wurde je ein 5-facher Stufenschnitt in HE-Färbung angefertigt und diese ausgewertet. Die histologische Einteilung der Gewebe erfolgte folgendermaßen:

1. Gewebe mit nicht erhaltenen Strukturen:

- a) Granulom
- b) Abszeß
- c) Abszeß + Granulationsgewebe
- d) Granulom + nekrotische Drüsenreste
- e) Abszeß + einzelne Drüsen + Plattenepithel-
metaplasie

2. Gewebe mit erhaltenen Strukturen:

- a) Drüsen mit einschichtigem Epithel
- b) Drüsen mit mehrschichtigem Epithel
- c) Drüsen mit einschichtigem Epithel und Platten-
epithelmetaplasie
- d) Drüsen mit mehrschichtigem Epithel und Platten-
epithelmetaplasie

II. Statistisches Verfahren

Zur Prüfung der beobachteten Häufigkeitsunterschiede auf Signifikanz wurde der χ^2 - Test angewandt (60,82). Erreicht oder übersteigt der berechnete Prüfwert den für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % tabellierten Grenzwert, so gilt der Unterschied als statistisch gesichert. Ist der berechnete Prüfwert kleiner als der für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % tabellierte, so gilt der anhand des Beobachtungsumfanges aufgetretene Unterschied als vermutlich zufällig bedingt und sachlich nicht vorhanden. Ist der Prüfwert gleich oder größer als der für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % tabellierte Grenzwert, aber kleiner als 1 % Grenzwert, so gilt der Unterschied als statistisch auffällig.

Mittelwert, Standardabweichungen und Standardabweichungen des Mittelwertes wurden nach folgenden Formeln berechnet:

a) Mittelwert
$$\bar{X} = (\sum_{i=1}^n X_i) / n$$

b) Standardabweichung
$$s = \sqrt{\frac{\sum X_i^2 - \frac{1}{n} (\sum X_i)^2}{n-1}}$$

c) Standardabweichung
$$s_x = s / \sqrt{n}$$

des Mittelwertes

II. Ergebnisse

Es wurden 12 Prostataadenome von verschiedenen Patienten in zwei Versuchsgruppen bei gleicher Gruppenstärke von je 78 Tieren auf insgesamt 156 neonatale Ratten verpflanz. In jeder Gruppe, bestehend aus 6 Rattenwürfen von je 13 Tieren, wurden 48 Tiere mit ALS behandelt und 30 Tiere dienten als Kontrolle. Jeder Wurf bestand also aus 8 Tieren mit ALS-Behandlung und 5 Kontrolltieren ohne ALS-Behandlung.

1) Sterblichkeitsquote

In der Versuchsgruppe I starben bis zum Tag der Resektion 5 Tiere, die mit ALS behandelt wurden, aber keine Kontrolltiere. Das entspricht einer Mortalitätsquote von 10 %, bezogen auf die behandelten Tiere. Dennoch ergibt die Überprüfung mit dem χ^2 - Test, daß sich anhand des Beobachtungsumfanges ein Unterschied in der Todesrate in Abhängigkeit von mit ALS behandelten Tieren und Kontrolltieren nicht sichern läßt. ($\chi^2 = 3,3$)

In der Versuchsgruppe II kamen ebenfalls bis zum Versuchsende keine Kontrolltiere ad exitum, wohingegen 18 behandelte Tiere starben. Das ergibt eine Mortalitätsquote von 37 %. Die Überprüfung mit dem χ^2 - Test ergibt in diesem Falle

Abb. 1: Mortalität mit Angabe der Vertrauensgrenze von 95%.

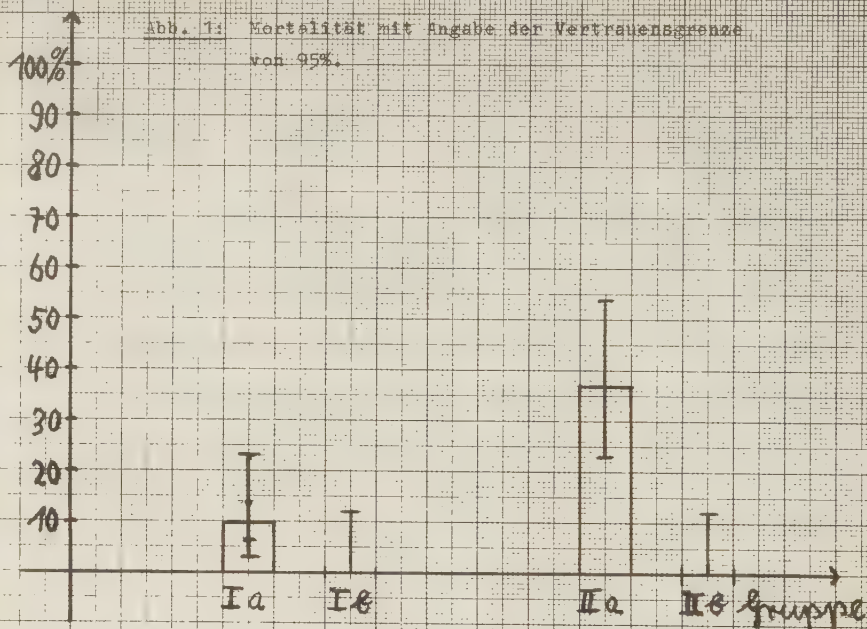
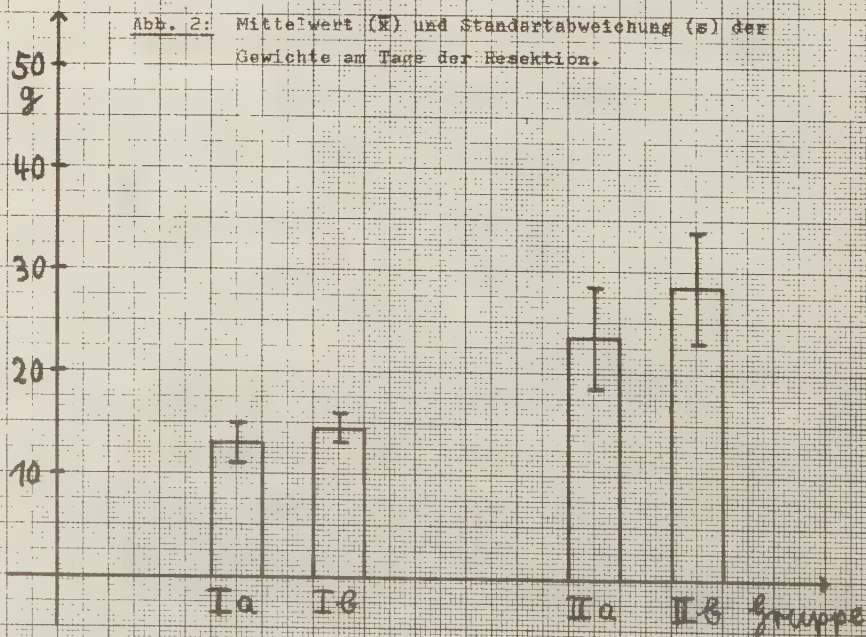


Abb. 2: Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s) der Gewichte am Tage der Resektion.



einen signifikanten, statistisch gesicherten Unterschied ($\chi^2 = 14,6$). Eine graphische Darstellung der Mortalität zeigt die Abbildung 1.

2) Gewichtsverhalten

Um festzustellen, ob das ALS einen Einfluß auf das Gewichtsverhalten hat, wurden die Tiere vom Tag der Transplantation an jedem dritten Tag und am Tag der Resektion gewogen. In der Tabelle 2 sind die Mittelwerte, Standardabweichungen und Standardabweichungen des Mittelwertes der Gewichte an den genannten Wägeterminen dargestellt. Die Gewichtsentwicklung zeigt die Abbildung 3. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Standardabweichungen für die Versuchsgruppen a 1 mm nach rechts und für die Versuchsgruppen b 1 mm nach links versetzt eingezeichnet. Mittelwert und Standardabweichung der Gewichte am Tag der Resektion sind in der Abbildung 2 dargestellt. Ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den behandelten Tieren und den Kontrolltieren läßt sich nicht nachweisen. Die geringen Gewichtsunterschiede sind als zufallsbedingt anzusehen.

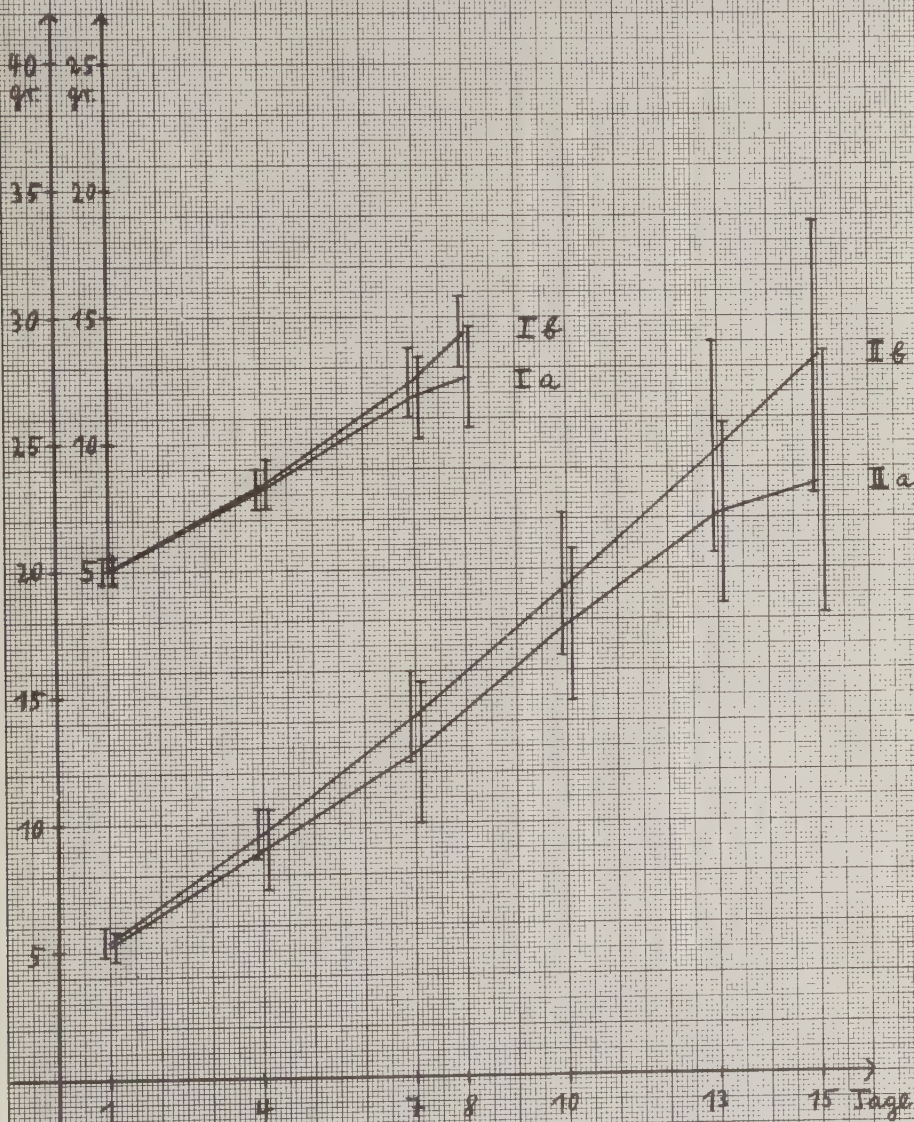
3) Histologie und Angehrate

Nach 7 Tagen konnte in der Versuchsgruppe I bei 73 Tieren Gewebe reseziert und histologisch untersucht

Tab. 2: Gewichtsverhalten der mit AIS behandelten Tiere und der Kontrolltiere vom Tage der Transplantation bis zum Tage der Resektion.

Versuchsgruppe			I a	I b	II a	II b
Gruppengröße (n), Mittelwert ($\bar{X}$), Standardabweichung (s) und Standardabweichung des Mittelwertes ($s_{\bar{X}}$) an folgenden Tagen:	1. Tag	n	4	30	48	30
		$\bar{X}$	4,97	4,96	5,16	5,40
		s	0,48	0,55	0,51	0,49
		$s_{\bar{X}}$	0,06	0,10	0,07	0,09
	4. Tag	n	46	30	46	30
		$\bar{X}$	8,23	8,30	8,92	9,56
		s	0,87	1,05	1,63	1,07
		$s_{\bar{X}}$	0,12	0,19	0,26	0,19
	7. Tag	n	43	30	42	30
		$\bar{X}$	11,83	12,50	12,78	14,20
		s	1,54	1,35	2,85	1,71
		$s_{\bar{X}}$	0,23	0,24	0,43	0,31
	8. Tag	n	43	30		
		$\bar{X}$	12,67	14,40		
		s	2,08	1,42		
		$s_{\bar{X}}$	0,31	0,26		
	10. Tag	n			34	30
		$\bar{X}$			17,85	19,33
		s			3,05	2,83
		$s_{\bar{X}}$			0,52	0,51
	13. Tag	n			30	30
		$\bar{X}$			22,26	24,76
		s			3,68	4,19
		$s_{\bar{X}}$			0,67	0,76
	15. Tag	n			31	30
		$\bar{X}$			23,36	28,43
		s			5,15	5,36
		$s_{\bar{X}}$			0,94	0,97

Abb. 3: Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichungen (s) der Gewichte (gr) bis zum Tage der Resektion.



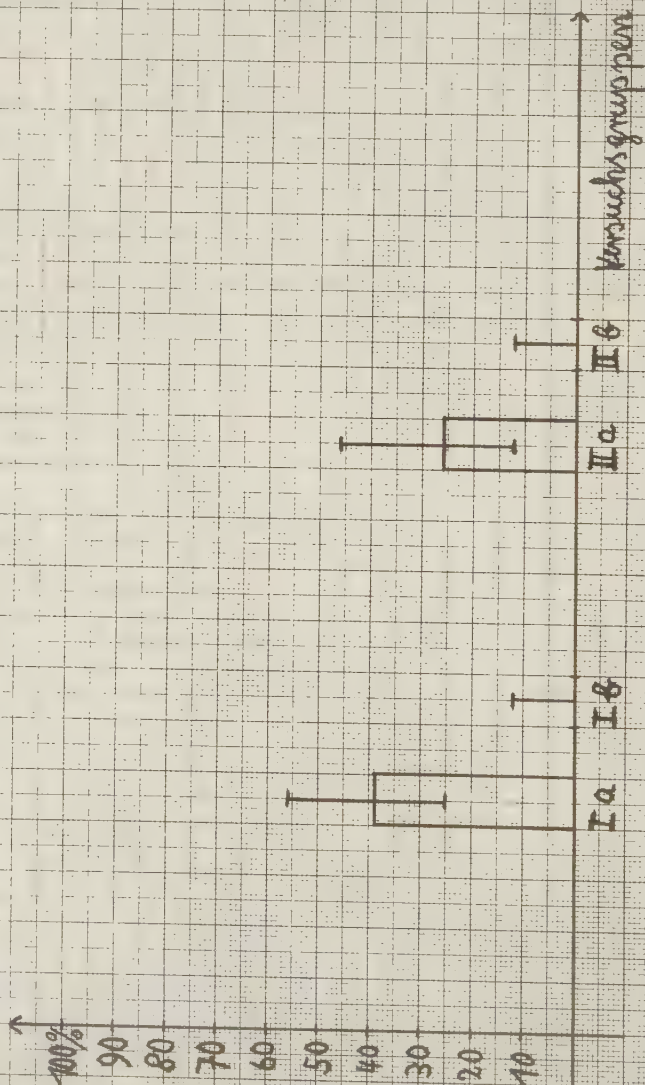
werden. ($73:78 = 93 \%$) In der Versuchsgruppe II konnte nach 14 Tagen bei 58 Tieren Gewebe extirpiert werden ($58:78 = 75 \%$). Insgesamt konnten also 131 Gewebe reseziert werden. In 106 Fällen war dieses nur noch ein Reaktionsprodukt der Tumoreabstoßung. Dieses präsentierte sich histologisch 84 mal in granulombildender Form und 22 mal in abszedierender Form. In beiden Fällen konnte makroskopisch durch die Form, Farbe, Konsistenz und Größe des Gewebes nur mit Einschränkung auf das Ergebnis Adenomgewebe bzw. Granulom oder Abszeß geschlossen werden. In zwei Fällen war bei den Kontrolltieren der Versuchsgruppe II nach 14 Tagen das Adenomgewebe vollständig resorbiert, so daß nichts mehr reseziert werden konnte.

In 25 Fällen konnte echtes Tumorgewebe - teils voll vital, teils mit regressiven Veränderungen - reseziert werden. Eine genaue Übersicht über die Anzahl und Art der resezierten Gewebe in den beiden Versuchsgruppen, einschließlich der Kontrolltiere, zeigt die Tabelle 3. Danach beträgt die Tumorangehrate in der Gruppe II $\frac{8}{30} = 26 \%$. Aus der Tabelle ist weiter ersichtlich, daß bei den Kontrolltieren, wie zu erwarten, kein Tumor angegangen ist. Die Überprüfung mit dem χ^2 - Test ergibt dann auch einen statistisch gesicherten Unterschied. (Versuchsgruppe I: $\chi^2 = 15,5$ Versuchsgruppe II: $\chi^2 = 11,2$) Die Angehrate mit Angabe der 95 % Vertrauensgrenze ist in der Abbildung 4 dargestellt.

Tab. 3: Anzahl und Art der resezierten Gewebe der Versuchsgruppen Ia und IIa mit den Kontrollen Ib und IIb.

	Histologie	I a	I b	II a	II b
NICHT ERHALTENE STRUKTUREN	Granulome	13	14	15	24
	Abszesse	1	7	1	2
	Abszesse + Granulationsgewebe	1	4	1	1
	Granulome + nekrotische Drüsenreste	8	5	4	1
	Abszesse + einzelne Drüsen + Epithelmetaplasie	3	0	1	0
ERHALTENE STRUKTUREN	Drüsen mit einschichtigem Epithel	6	0	3	0
	Drüsen mit mehrschichtigem Epithel	7	0	4	0
	einschichtiges Epithel + Epithelmetaplasie	2	0	1	0
	Mehrschichtiges Epithel + Epithelmetaplasie	2	0	0	0

Abb. 4: Angehrate mit Angabe der Vertrauensgrenze von 95%.



Das entnommene Gewebe, das sich als ein Reaktionsprodukt der Tumorstoßung präsentiert, zeigt nach Fixation in Formol und Paraffineinbettung in 7 μ dicken Stufenschnitten mit HE-Färbung folgende zwei verschiedene Reaktionsweisen:

In einem Teil der Präparate sieht man eine diffuse Durchsetzung mit Fibroblasten, Fibrozyten und Plasmazellen. Außerdem erkennt man eine gleichmäßig über das ganze Präparat verteilte Bindegewebsneubildung bei gleichzeitiger Abnahme des tumoreigenen Stromas. An manchen Stellen sieht man mehrkernige Riesenzellen, deren Kerne an der Peripherie immer hufeisenförmig angeordnet sind. An anderen Stellen sieht man Ansammlungen von Zellen mit einem wasserklaren Plasma, die als Schaumzellen gedeutet werden können. Es handelt sich um das Bild einer fibrosierenden, narbenbildenden Entzündung (Granulombildung).

In anderen Präparaten erkennt man eine zentrale, homogene, strukturlose eosinophile Anfärbung, die an der Peripherie von einem zellreichen Rand begrenzt wird. Dieser Rand besteht schichtweise aus Granulozyten, Lymphozyten, sowie peripheren Fibrozyten und Plasmazellen. An manchen Stellen dieser eosinophilen Masse erkennt man dunkelblaue Flecken, die Kalkeinlagerungen und Bakterienhaufen entsprechen.

Es handelt sich um das Bild einer abszedierenden Entzündung mit leukozytären Randreaktionen.

Die Abbildungen 5 - 12 zeigen ein menschliches Prostatadenom, zwei 14 Tage alte Transplantate ohne ALS-Behandlung und fünf 14 Tage alte Transplantate mit ALS-Behandlung.

4) Prüfung auf unterschiedliches "Angehen".

Da es sich bei allen 12 Adenomen um die gleiche Tumorstadt handelt, müßten sie alle etwa die gleiche "Transplantierbarkeit" haben, das heißt, sie müßten alle etwa gleich gut "angehen". Dieses wurde mit Hilfe der Binomialverteilung untersucht. Dazu werden die Tabellen 4 und 5 auf der folgenden Seite aufgestellt. Die Bedeutung der senkrechten Spalten 1 - 8 zeigt die darauffolgende Seite.

Tab. 4: Versuchsgruppe Ia:

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	1	6	7	1	0	0	0,11
2	2	5	7	1	1	1	0,58
3	4	4	8	0	2	1	1,31
4	4	4	8	0	3	2	1,68
5	3	3	6	2	4	2	1,34
6	3	4	7	1	5	0	0,68
gesamt	17	26	43	5	6	0	0,22
					7	0	0,04
					8	0	0,00

Gesamtangehrate: $\frac{17}{43} = 0,39$

Tab. 5: Versuchsgruppe IIa:

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	3	3	6	2	0	2	0,54
2	2	3	5	3	1	1	1,51
3	0	4	4	4	2	2	1,86
4	2	4	6	2	3	1	1,31
5	1	4	5	3	4	0	0,57
6	0	4	4	4	5	0	0,16
gesamt	8	22	30	18	6	0	0,02
					7	0	0,00
					8	0	0,00

Gesamtangehrate: $\frac{8}{30} = 0,26$

In den vorliegenden Tabellen bedeutet von links nach rechts:

- Spalte Nr. I : Nr. des Rattenwurfs
- Spalte Nr. II : Anzahl der angegangenen Adenome
- Spalte Nr. III : Anzahl der nicht angegangenen Adenome
- Spalte Nr. IV : Anzahl der Überlebenden Versuchstiere
- Spalte Nr. V : Anzahl der verstorbenen Versuchstiere
- Spalte Nr. VI : Häufigkeit der angegangenen Adenome
- Spalte Nr. VII : beobachtete Anzahl der angegangenen Adenome
- Spalte Nr. VIII : erwartete Häufigkeit der angegangenen Adenome, unter der Annahme gleicher Angehewahrscheinlichkeit für alle Adenome

Die erwartete Häufigkeit wurde nach folgender Formel berechnet:

$$n_2 \cdot f(x) = \frac{8}{x} p^x \cdot q^{n_1-x} \quad n_2$$

Darin bedeutet:

- x = Häufigkeit: 0,1,2, ..., 8
- p = Gesamtangehewate : 0,39 bzw. 0,26
- q = $1 - p$: 0,61 bzw. 0,74
- n_1 = Gruppengröße pro Wurf = 8
- n_2 = Anzahl der Würfe (Versuche) = 6

Die Häufigkeiten (beobachtete und erwartete) wurden aus den Spalten 6 - 8 der Tabellen 4 und 5 in den Tabellen 6 und 7 auf der folgenden Seite zusammengefaßt. Die beobachteten und unter der Annahme gleicher Angehwhrscheinlichkeiten berechneten Angehzahlen stimmen gut überein. Das bedeutet, daß alle 12 Adenome, in etwa die gleiche "Transplantierbarkeit" haben. Sie sind also nach der Theorie von GREENE (42) in ihrer Malignität bzw. Benignität gleich.

Tab. 6: Versuchsgruppe Ia. Häufigkeit (h), beobachtete Häufigkeit (b) und erwartete Häufigkeit (e):

h	b	e	e ⁺
0	0	0,11	0
1-2	2	1,89	2
3-4	4	3,02	3
<5	0	0,94	1
gesamt	6	5,96	6

Tab. 7: Versuchsgruppe IIa Häufigkeit (h), beobachtete Häufigkeit (b) und erwartete Häufigkeit (e):

h	b	e	e ⁺
0	2	0,54	1
1-2	3	3,37	3
3-4	1	1,88	2
<5	0	0,18	0
gesamt	6	5,87	6

Anmerkung: e⁺ bedeutet einen auf bzw. abgerundeten Wert von e.

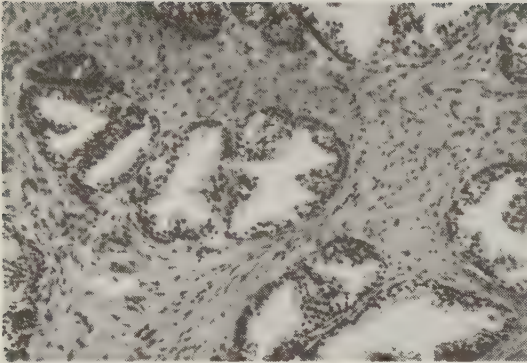


Abb. 5: Ausschnitt aus einem menschlichen Prostataadenom: unregelmäßig angeordnete drüsige Lumina mit mehrschichtigem Epithel. Zwischen den Drüsengruppen bündelförmig angeordnete Muskel- und Bindegewebsfasern.

Form.Fix. HE-Färb. Vergr. 100 X.

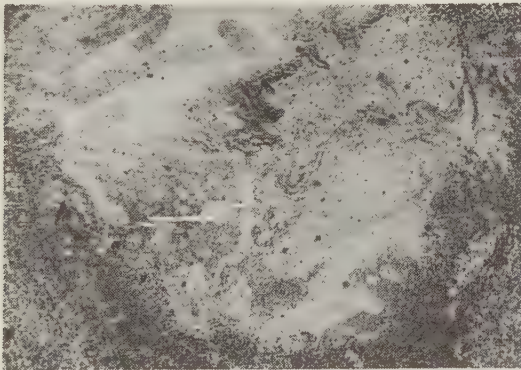


Abb. 6: Ausschnitt eines 14 Tage alten Transplantates ohne ALS-Behandlung: Vollständige zentrale Einschmelzung mit Nekrose. Zellreicher Randsaum mit vereinzelt Bakterienhaufen.

Form. Fix. HE-Färb. Vergr. 40 X.



Abb. 7: Ausschnitt eines 14 Tage alten Transplantates ohne ALS-Behandlung. Keine Strukturen eines Prostataadenoms nachweisbar. Diffuse, zelluläre Infiltration, teilweise mit Granulombildung. An einzelnen Stellen Riesenzellen.

Form. Fix. HE-Färb. Vergr. 40 X.

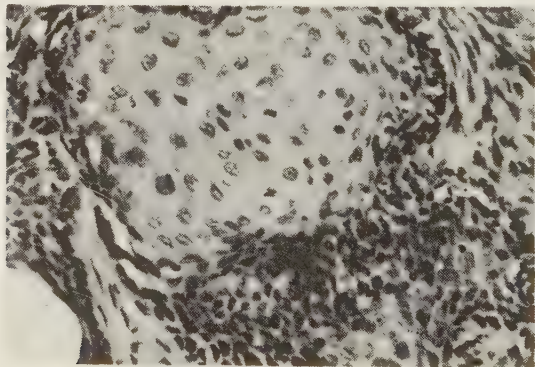


Abb. 8: Ausschnitt eines 14 Tage alten Transplantates nach ALS-Behandlung: das drüsige Lumen ist durch neugebildete Plattenepithelien vollständig verschlossen. Keine reaktive entzündliche Infiltration.

Form. Fix. HE-Färb. Vergr. 250 X.

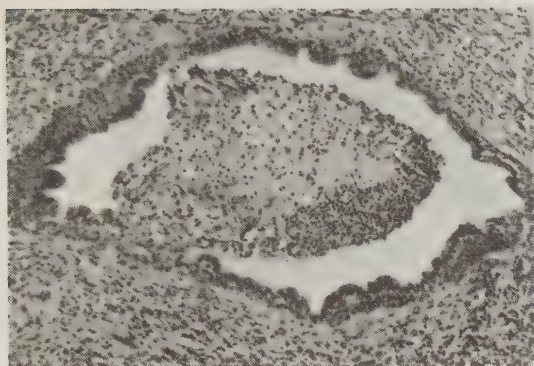


Abb. 9: Ausschnitt eines 14 Tage alten Transplantates nach ALS-Behandlung: Das Drüsenlumen ist mit einer eosinophilen Masse ausgefüllt, die zum Teil Zelltrümmer enthält. Das mehrschichtige Drüsenepithel ist voll erhalten. Sekretorischer Bürstensaum teilweise erkennbar.

Form. Fix. HE-Färb. Vergr. 100 X.

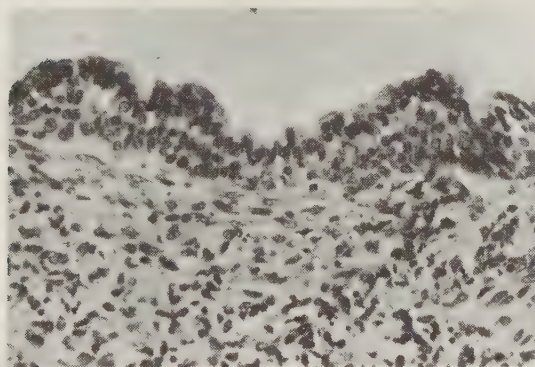


Abb. 10: Ausschnitt aus der vorherigen Abbildung, Deutlich erkennbar das mehrschichtige Epithel und der zum Teil noch erhaltene Bürstensaum.

Form. Fix. HE-Färb. Vergr. 250 X.

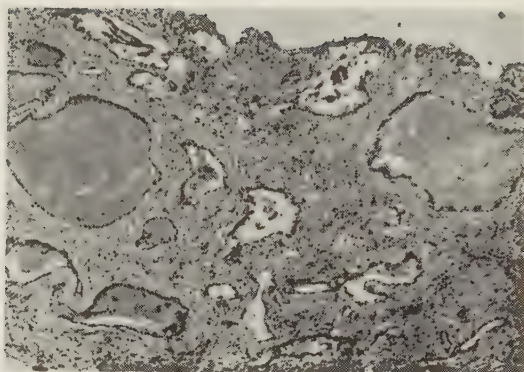


Abb. 11: Ausschnitt eines 14 Tage alten Transplantates nach ALS-Behandlung: Drüsenlumina mit eosinophiler Masse und Zelltrümmer gefüllt. Flacher, zumeist einschichtiger Epithelrand. Keine entzündliche interstitielle Infiltration.

Form. Fix. HE-Färb. Vergr. 40 X.

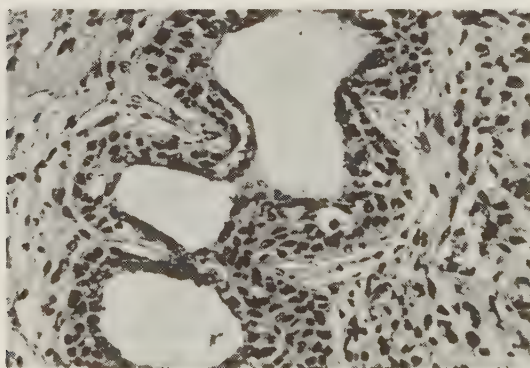


Abb. 12: Ausschnitt eines 14 Tage alten Transplantates nach ALS-Behandlung. Mehrschichtiger Epithelrand ohne sekretorischen Saum. Einzelne Zellen mit Vakuolenbildung. Keine periphere entzündliche Infiltration.

Form. F₁x. HE-Färb. Vergr. 250 X.

E D I S K U S S I O N

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob es mit ALS alleine gelingt, eine genügende Immunsuppression zu erreichen, um menschliches Prostataadenomgewebe heterolog zu transplantieren. Es sollte eine möglichst hohe Tumorangehrate bei niedrigen Ausfallquoten erzielt werden.

I Sterblichkeitsquote

In der Versuchsgruppe I betrug die Mortalitätsquote 10 % und in der Versuchsgruppe II 37 %. Kontrolltiere kamen während der Versuchszeit nicht ad exitum. Es stellt sich nun die Frage, weshalb eine so hohe Mortalitätsquote, besonders in der Gruppe II, aufgetreten ist. Hauptgrund dafür ist möglicherweise, daß die Versuchstiere nicht unter sterilen Bedingungen gehalten wurden. Viele von ihnen kanen deshalb mit Keimen in Kontakt. Dies zeigte sich darin, daß bei einer Anzahl von Tieren an der Implantationsstelle und der Injektionsstelle für das ALS schon nach wenigen Tagen Abszesse auftraten. Diese Tiere verendeten dann bei Weitergabe von ALS innerhalb kurzer Zeit. Es ist auch zu beobachten, daß das Transplantationsmaterial nicht immer keimfrei gewesen sein muß. Da auch bei einigen Kontrolltieren an der Implantationsstelle Abszesse auftraten, die aber nach wenigen Tagen völlig

verschwanden, und kein Kontrolltier ad exitum kam, beweist, daß durch ALS eine gewisse Immunsuppression erreicht worden ist. Wenn dies nicht der Fall gewesen wäre, hätten die Abszesse bei den mit ALS behandelten Tieren auch nach wenigen Tagen abgeheilt sein müssen. Es wäre also bei der Versuchsanordnung nötig gewesen, die Tiere unter sterilen Käuteln zu halten, um eine Kontamination mit Keimen zu unterbinden. Um möglichst niedrige Ausfallquoten zu erhalten, ist es auch empfehlenswert, gleichzeitig mit dem ALS ein Breitbandantibiotikum zu verabreichen. Durch diese beiden Maßnahmen hätte wahrscheinlich eine wesentlich niedrigere Mortalitätsquote erreicht werden können.

Eine weitere Ursache für die hohe Mortalitätsquote kann eine direkte Toxizität des ALS sein. Nach IWASAKI (52) ist ein ALS nicht spezifisch gegen die Lymphozyten der Spendertiere gerichtet. Er konnte zeigen, daß eine wiederholte Absorption des ALS mit Nieren- und Leberzellen einen Titerverlust von ungefähr 90 % zur Folge hatte. Dieser Befund zeigt, daß die meisten Antigene der Lymphozyten auch in anderen Geweben vorhanden sein müssen. Außerdem stellte er bei seinen Versuchen eine große Zahl von histologischen Nierenschäden fest. Diese Schädigung bestand in einer Anhäufung von γ - Globulin, zusammen mit Komplement, entlang der Basalmembran der Nierenglomeruli.

PISANO (89) gibt einen direkt tötenden Effekt des ALS auf die Kuppfer-Zellen der Leber an. PICHLMAYR (88) berichtet bei seinem ALS auch über eine Antikörperbildung gegen Granulozyten. Ob diese anti-granulozytäre Wirkung durch Verunreinigung des Immunisierungsmaterials mit geringen Mengen von Granulozyten oder einer Antigenverwandschaft zwischen Lymphozyten und Granulozyten hervorgerufen wurde, konnte er nicht entscheiden. Bei der Verwendung eines inhomogenen Materials zur Immunisierung, was das Milzperfusat ja ist, ist daher mit einem unerwünscht breitem Spektrum von AK zu rechnen. Nach PICHLMAYR (88) sind daher die Lymphozyten der Lymphe, zu gewinnen durch Kanülierung des ductus thoracicus, das beste AG zur Immunisierung, weil sie wenig andere Zellarten besitzt. Außerdem bestehen die Lymphozyten der Lymphe zu 95 % aus kleinen und nur zu 5 % aus großen Lymphozyten. Die immun-kompetenten Zellen gehören aber nach PICHLMAYR (84) zu der Gruppe der kleinen Lymphozyten. Die immunsuppressiv wirkenden AK gehören nach GUTTMANN (44) alle der Globulinfraktion der Serumproteine an und befinden sich im Kaninchenserum fast ausschließlich im Immunglobulin-G-Bereich. Durch geeignete Trennungs- und Reinigungsmethoden ist es nach IWASAKI (52) und STARR (110) heute möglich, nahezu reines Gamma-G-Globulin zu erhalten. Dieses ist dann natürlich bedeutend weniger toxisch als ungereinigtes Material.

Kurz zusammengefaßt hätte bei den vorliegenden Versuchen durch die Berücksichtigung bzw. Abänderung folgender Faktoren eine erheblich verringerte Mortalitätsquote erreicht werden können: 1) Haltung der Tiere unter sterilen Bedingungen, 2) gleichzeitige Verabreichung eines Breitbandantibiotikums, 3) Herstellung des ALS unter Verwendung von Lymphozyten aus dem ductus thoracicus als Immunisierungsentigen, 4) Entfernung der unerwünschten AK aus dem Serum durch wiederholtes Fraktionieren mit der Ammoniumsulfatpräzipitationsmethode oder, noch besser, Herstellung und Verwendung von reinem Gamma-G-Globulin. Das letztere wäre allerdings mit einem erheblichem Mehraufwand an Arbeit verbunden gewesen.

II. Gewichtsverhalten

Um festzustellen, ob das ALS einen Einfluß auf das Gewichtsverhalten der Tiere hat, wurden diese am Tage der Transplantation, danach jeden dritten Tag, und am Tag der Resektion gewogen. Wie die Abbildung 2 zeigt, konnte ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den mit ALS behandelten Tieren und den Kontrolltieren nicht festgestellt werden. Um genaue Aussagen machen zu können, hätte man auch die aufgenommene Nahrungsmenge eines jeden einzelnen Tieres vorher bestimmen müssen. Das war aber methodisch nicht möglich.

III. Histologie und Angehrate

In 25 Fällen konnte echtes Tumorgewebe, teils mit regressiven Veränderungen, reseziert werden. Auffallend war die Abnahme des tumoreigenen Stromas und das häufige Fehlen einer entzündlichen Infiltration. In der Versuchsgruppe Ia betrug die Tumorangehrate 39 % und die Versuchsgruppe IIa zeigte 26 %. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den in der Literatur angegebenen, so fällt auf, daß sie, absolut gesehen, nach unten abweichen. TOOLAN (114) gibt eine Angehrate von 90 % an. PATTERSON et al. (78) berichten von 70 % Angehrate. HOCH-LIGETTI und HSÜ (49) konnten eine Angehrate von 57 % feststellen. SOMMERS et al. (102) erreichten in der Ratte 53 % und in der Backentasche des Hamsters 46 % angegangene Tumoren. Die Ergebnisse liegen aber höher als diejenigen von HANDLER et al. (44), die 16 % angeben. Andererseits muß aber berücksichtigt werden, daß die meisten Autoren mit Malignomen arbeiten, während es sich bei einem Prostataadenom um eine gutartige Geschwulst handelt. Bei diesem ist aber aus Gründen, die schon erwähnt wurden, eine geringere Angehrate zu erwarten. Deshalb ist ein direkter Vergleich kaum möglich. Außerdem finden sich beim Arbeiten mit einer großen Tumorzahl immer wieder Geschwülste, die sich durch besonders schnelles Wachstum auszeichnen, und die über viele Generationen schließlich auch ohne

Immunsuppression des Wirtes züchtbar sind. (Standart-Tumoren, TOOLAN, GOLDBERG). Mehrere Gründe könnten für die niedrige Angehrate der Prostataadenome angeführt werden. Man müßte möglicherweise den Lymphagglutinationstiter des Serums erhöhen. Das kann durch Verabreichung einer größeren Menge Immunisierungsmaterials, eventuell zweimal wöchentlich, erreicht werden. Auch durch die Anwendung mehrerer Booster-Injektionen nach der Grundimmunisation läßt sich nach RUSSEL und MONACO (94) der AK-Titer erhöhen. Außerdem spielt die Höhe der Serumdosierung eine entscheidende Rolle. Es findet nämlich nach RUSSEL und MONACO eine AK-Bildung gegen das ALS statt, wenn dieses in geringen Dosen verabreicht wird. In großen Dosen verhindert ALS, obwohl selbst ein Antigen, die AK-Bildung gegen sich selbst. Außerdem könnte man versuchen, proportional der Gewichtszunahme der Tiere die Serumdosis zu erhöhen. Die AK-Bildung gegen das Serum selbst ist wahrscheinlich die Hauptursache dafür, daß in der Versuchsgruppe IIA die Angehrate merklich niedriger war, als in der Versuchsgruppe Ia. Denn es ist anzunehmen, daß auch in der Versuchsgruppe IIA die Tumorangehrate in der ersten Woche größer war, dann aber das transplantierte Gewebe wegen nachlassender Wirkung des ALS in einem immer größer werdendem Maße zugrunde ging. Nach HOEHN und SIMMONS (50) kann die optimale Dosis laufend während der Verabreichung eingestellt werden, indem man einen peripheren

Lymphozytenabfall zwischen 500 - 2000/mm³ aufrecht-
erhält. Diese Dosis bewirkt dann nach ihrer Vorstellung
eine maximale Immunsuppression bei minimaler Toxizität.
Andererseits berichten aber GUTTMAN et al. (44),
JEEJEEBHOY (55) und LIE (64), daß keine Korrelation
zwischen dem genannten Lymphozytenabfall und dem Grad
der Immunsuppression besteht.

Auch die Vorbehandlung mit ALS
könnte eine Verbesserung der Ergebnisse bringen. WOODRUFF
(120) berichtet, daß die Überlebensdauer von Haut-
transplantaten in Ratten mit Vorbehandlung durch ALS
vor der Transplantation größer ist, als die Behandlung
mit ALS vom Tage der Transplantation an. Als Vorbe-
handlung wählte er 7 Tage und verabreichte täglich 2 ml
ALS. Die Nachbehandlung führte er mit niedrigeren Dosen
von 1 ml täglich durch.

Eine weitere Möglichkeit die An-
gehrate zu erhöhen besteht in der gleichzeitigen Verabrei-
chung von Cortisonacetat oder eines Zytostatikums wie
z. B. Azathioprin (Imuran) oder Cyclophosphamid (Cytox-
an). Nach TOOLAN (115) hat Cortison eine entzündungs-
hemmende, blutgefäßabdichtende und die Bindegewebsaus-
reifung verhindernde lokale Wirkung. Zytostatika sind
Stoffe, die in spezifischer Weise die DNA- bzw. RNA-
Synthese hemmen und so die Proliferationsfähigkeit der
immunkompetenten Zellen unterdrücken. STARRZ et al.
(110), die Nieren und Lebertransplantationen an Mäusen
durchführten, konnten zeigen, daß eine Kombinations-
therapie mit ALS und kleinen Dosen von Azathioprin eine

leichte Verlängerung der Überlebenszeit bewirkten gegenüber den Tieren, die ALS alleine erhielten. Auch der Grad der histologischen Veränderungen schien verkleinert.

Kurz zusammengefaßt läßt sich meiner Meinung nach also durch folgende Maßnahmen eine höhere Angehrate erzielen: 1) Erhöhung der AK im Serum, 2) Erhöhung der Serumdosis, 3) Serumvorbehandlung, 4) Kombinierte Gabe von ALS und Cortison und/oder eines Zytostatikums.

IV. Prüfung auf unterschiedliches "Angehen"

Die Prüfung der Adenome auf unterschiedliches "Angehen" erfolgte mit Hilfe der Binominalverteilung. Es wurde festgestellt, daß sie alle etwa die gleiche "Transplantierbarkeit" besitzen. Bei diesem Ergebnis ist jedoch zu beachten, daß die vor Versuchsende verstorbenen Tiere in der Formel nicht berücksichtigt wurden, weil immer die gleiche Gruppengröße, nämlich $n_1=8$ eingesetzt wurde. Dennoch entspricht das Ergebnis der Erwartung, daß sich die verschiedenen Adenome in Bezug auf das Wachstum in einem fremden Wirt etwa gleich verhalten.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Nachdem in zahlreichen Fällen die Literatur über die mehr oder weniger erfolgreiche Heterotransplantation von menschlichem Tumorgewebe auf vorbehandelte Wirtstiere mit Immunsuppression berichtet wurde, wurde die Überpflanzung von menschlichem Prostataadenomgewebe auf neonatale Ratten mit Hilfe eines selbsthergestellten Antilymphozytenserums zur Erreichung einer Immunsuppression versucht.

Die Herstellung des ALS erfolgte durch Immunisierung von 4 Neuseeländer-Kaninchen mit Lymphozyten, die aus Rattenmilzen gewonnen wurden. Nach 4 Gaben des Immunisierungsmaterials, die einmal wöchentlich erfolgte, wurden die Tiere nach der letzten Injektion entblutet und das Serum von jedem Kaninchen einzeln abzentrifugiert. Nach der Inaktivierung der Sera bei 57° wurde der Lymphagglutinationstiter und der Erythrozytenagglutinationstiter festgestellt, sowie der Cytotoxizitätstest mit Trypanblau gemacht. Weil der Erythrozytenagglutinationstiter zu hoch war, mußten die einzelnen Sera noch gegen Rattererythrozyten absorbiert werden. Da die beiden anderen Werte ausreichend erschienen, wurden die Sera aller 4 Kaninchen gepoolt und bei -24° bis zum Verbrauch gelagert.

Insgesamt wurden auf 156 neonatale Weibchen Wistar-Ratten 12 verschiedene menschliche Prostataadenomgewebe transplantiert. Es wurden 2 Versuchsgruppen zu je 78 Tieren mit einer Transplantationsdauer von 7 Tagen (Versuchsgruppe I) bzw. 14 Tagen (Versuchsgruppe II) auf-

gestellt. Jede Versuchsgruppe bestand aus 6 Würfen mit je 13 Tieren. Von diesen 13 Tieren wurden jeweils 8 mit einer täglichen Dosis von 0,1 ml ALS vom Tage der Transplantation an bis zum Tage der Resektion behandelt. Die restlichen 5 Tiere dienten als Kontrolle ohne ALS. Für jeden Wurf war ein anderes Prostataadenom bestimmt.

Bei den Kontrolltieren beider Versuchsgruppen zeigte die histologische Auswertung der resezierten Gewebe, wie nicht anders zu erwarten war, daß kein Tumor angegangen war. Das Reaktionsprodukt bestand meistens aus Granulationsgewebe und Abszessen. Vereinzelt waren noch nekrotische Drüsenreste nachweisbar. Bei den mit ALS behandelten Tieren gingen in der Versuchsgruppe I 17 Adenome und in der Versuchsgruppe II 8 Adenome an. Das entspricht einer Angehrate von 39 % bzw. 26 %. Die Überprüfung dieser Ergebnisse auf beobachtete Häufigkeitsunterschiede mit dem χ^2 -Test ergab einen signifikanten, statistisch gesicherten Wert in Bezug auf die Kontrolltiere.

Die Mortalitätsquote betrug in der Versuchsgruppe I 10 % und in der Versuchsgruppe II 37 %. In beiden Versuchsgruppen kam kein Kontrolltier ad exitum. Dennoch zeigte die Prüfung mit dem χ^2 -Test nur für die Versuchsgruppe II einen statistisch gesicherten Unterschied in Bezug auf die Kontrolltiere.

Mittelwerte und Standartabweichungen der Gewichte zeigten, daß kein gesicherter Unterschied zwischen behandelten und unbehandelten Tieren besteht.

Anhand des Beobachtungsumfangs läßt sich die Null-Hypothese, daß alle Adenome die gleiche "Transplantierbarkeit" besitzen, nicht ablehnen.

(Anmerkung: Null-Hypothese läßt sich nicht beweisen, nur Unterschiede können statistisch nachgewiesen werden.)

G L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1 Adams R.A., Flowers A., Davis B.J.:
Direct implantation and serial transplantation of human
acute lymphoblastic leukemia in hamsters, SB-2.
CANCER RES. 28:1968/1121-1125
- 2 Adner M.M., Sherman J.D., Dameshek W.:
The normal development of the lymphoid mass in the golden
hamster and its relationship to the effects of the thym-
ectomy.
BLOOD 25:1965/511 - 521
- 3 Ahlström C.G.:
Heterotransplantation of cancer.
Z. KREBSFORSCH. 61:1965/ 589 - 606
- 4 Albrink W.S., Wallace A. C.:
A comparison of growth potentialities of human tumors in
tissue culture and on heterologous transplantations.
CANCER RES. 12:1952/ 174 - 177
- 5 Altwein J.E., Orestano F., Schröder F.H.:
Problematik der Zytostatikatestung in vitro. Aus den uro-
logischen Kliniken HOMBURG/SAAR + MAINZ 1970.
- 6 Ambrose K.R., Candler, E.L., Coggin J.H.:
Characterisation of tumorspecific transplantation-immunity
reactions in immunodiffusion chambers in vivo.
PROC. SOC. EXP. BIOL & MED. 132: 1969 / 1013

- 7 Anigstein L., Anigstein D.M., Unterharnscheidt F.J.:
Mouse transplantable tumor induced by human spinal
meningioma implant in mice inoculated with human thymus
antiserum.
TEXAS REP. BIOL. & MED. 27: 1969 / 341 - 366
- 8 Archer O., Pierce J.C., Good R.A.:
Role of the thymus in the development of the immune res-
pose.
FED. PROC. 20: 1961 / 26
- 9 Arnason B. G., Jankovic B. D., Waksman B.H.:
A survey of the thymus and its relation to lymphocytes
and immune reactions.
BLOOD 20: 1962 / 617
- 10 Asakuma R., Reif A.E.:
The specificity of antilymphocyte sera to thymic, splenic
and leukemic lymphocytes.
CANCER RES. 28: 1968 / 707 - 715
- 11 Bando S.:
Proliferation and metastasis of the experimental trans-
planted bronchial tumor.
SHIKOKU ACTA MEDICA 25/3 : 1969 / 1.Teil 497 - 508
2.Teil 509 - 523
- 12 Bauer:
Das Krebsproblem
SPRINGER VERLAG, BERLIN 1963, 2. Auflage

- 13 Begemann H.:
Grenzen der Immunsuppression.
MED. TRIB. 16a : 1971 / 21
- 14 Begg R.W.:
Tumor - Host relations
ADVANC. CANCER RES. 5 : 1958 / 1-54
- 15 Billingham R.E., Brent L., Medawar P. B.:
"Enhancement" in normal homografts with a note of its
possible mechanism.
TRANS. BULL. 3 : 1956 / 84 - 88
- 16 Brent L., Kilshaw P.J.:
Prolongation of skin allografts survival with spleen
extracts and antilymphocytic serum.
NATURE 227: 1970 / 898 - 900
- 17 Brent L., Gowland G:
Immunological competence of newborn mice.
TRANSPLANTATION 1 : 1963 / 372 - 376
- 18 Burt F.B., Pavone-Macaluso M., Kaufmann J.J.:
The transplantation of human bladder tumors in the
hamster cheek pouch.
UROLOGIA 32 : 1965 / 172 - 179

- 19 Chew W.B., Lawrence J.S.:
Antilymphocytic serum.
J. IMMUN. (BALT) 33 : 1937 / 271
- 20 Cruickshank A.H.:
Antilymphocytic serum.
BRIT. J. EXP. PATH. 22 : 1941 / 126
- 21 Dietrich F.M.:
Immunologische Toleranz.
SCHWEIZ. MED. WSCHR. 94 : 1964 / 109
- 22 van Dooremaal J.G.:
Die Entwicklung der in fremden Grund versetzten
lebenden Gewebe.
ARCH. FÜR OPHTH. 19 : 1873 / 359 - 373
- 23 Eichwald E. J., Chang H.Y., Landa M.:
The significance of the anterior chamber in tumor
transplantation.
III. Natural resistance and acquired immunity
CANCER RES. 12 : 1952 / 490 - 494
- 24 Eichwald E.J.:
The present state of transplantation of human cancer.
ANN. SURGERY. 139 : 1954 / 527 - 528

- 25 Eisele R., Kaspar F., Busse V., Boese J.:
Über die Beeinflussung der Toleranz bei Haut-
transplantationen durch verschiedene Maßnahmen.
(Cytostatika, Trasyolol, Thymektomie, Splenektomie.)
LANGENBECKS ARCH. KLIN. CHIR. 316 : 1966 / 551 -554
- 26 da Fano:
Zelluläre Analyse der Geschwulstimmunitätsreaktionen.
Z. IMM. FOSCH. EXP. THER. 5 : 1910 / 1 - 75
- 27 Forsberg J.G., Staffan Nordqvist:
Growth and hormonal responsiveness of human endo-
metrial carcinoma after heterologous transplanta-
tion to neonatal rats.
I. NAT. CANCER INST. 41 : 1968 / 191 - 197
- 28 Forsberg J.G., Ingemanson C. Å.:
Successful growth of human columnar cervical
epithelium grafted into neonatal rats.
ACTA OBSTET. GYNEC. SCAND. 46 : 1967 / 581
- 29 Fulton G.P., Jackson R.G., Lutz B.R.:
Cinephotomicroscopy of normal blood circulation in
the cheek pouch of the hamster.
SCIENCE. 105 : 1947 / 361

- 30 Gershon R.K., Kondo K.:
Facilitation of metastatic growth by antilymphocyte
serum.
NATURE 226 : 1970 / 368 - 369
- 31 Goldenberg D. M., Witte S., Müller E.:
Über die fortgesetzte Transplantation eines menschli-
chen Ovarialcarcinoms im syrischen Goldhamster.
Z. KREBSFORSCH. 67 : 1965 / 86
- 32 Goldenberg D.M., Schmitt H., Witte S.:
Tierexperimentelle Beobachtungen über das intracere-
brale Wachstum menschlicher Tumoren.
Z. KREBSFORSCH. 69 : 1967 / 316 - 321
- 33 Goldenberg D. M., Müller E., Witte S.:
In vivo proliferation of heterotransplanted human
cancer cells.
EUROP. J. CANCER 3 : 1967 / 315 - 319
- 34 Goldenberg D. M.:
Die Verwendung einiger neuer Human-Tumorstämme in
der experimentellen Krebsforschung.
ARCH. GESCHWULSTFORSCH. Teil I. 29 : 1967 / 1 - 17
Teil II. 29 : 1967 / 18 - 34
- 35 Goldenberg D. M.:
Über die Progression der Malignität.
KLIN. WSCHR. 46 : 1968 / 898 - 899

- 36 Goldenberg D.M., Götz H.:
On the " human " nature of highly malignant hetero-
transplantable tumors of human origin.
EUROP. J. CANCER 4 : 1968 / 547 - 548
- 37 Götz J., Goller D.:
Immunologische Vorgänge in tumortragenden Organismen.
MÜNCH. MED. WSCHR. 48 : 1970 / 2203 - 2209
- 38 Gray, J.G., Monaco A.P., Russell P.S.:
Heterologous mouse antilymphocyteserum to prolong
skin homografts.
SURG. FORUM 15 : 1964 / 142
- 39 Gray J. G., Monaco A.P., Wood M.L., Russell P.S.:
Studies on heterologous anti-lymphocyte-serum in mice.
J. IMMUN. 96 : 1966 / 217 - 228
- 40 Greene H.S.N.:
Heterologous transplantation of human and other
mammalian tumors.
SCIENCE 88 : 1938 / 357 - 358
- 41 Greene H.S.N.:
The use of the mouse eye in transplantation experiments.
CANCER RES. 7 : 1947 / 491 - 501

- 42 Greene H.S.N.:
Identification of malignant tissue.
J. AMER. MED. ASS. 137 : 1948 / 1364
- 43 Grenzmann M., Vorlaender K.O.:
Thymus und Autoimmunphänomen.
DTSCH. MED. WSCHR. 34 : 1964 / 1598
- 44 Guttmann R.D., Carpenter C.B., Lindquist R.R.:
Merrill J.P.:
Treatment with heterologous antithymus sera:
nephritis associated with modification of renal
allograft rejection and the immune status of the
host to the foreign protein.
TRANSPLANTATION 5 : 1967 / 1115 - 1120
- 45 Handler A.H.:
Chemotherapy studies on transplantable human and animal
tumors in Syrian hamsters.
ANN. N.Y. ACAD. SCI. 76 : 1956 - 59 / 775 - 790
- 46 Hectoën L.:
The influence of the X-ray on the production of anti-
bodies.
J. INFECT. DIS. 17 : 1915 / 415 - 422
- 47 Herbut P.A., Kraemer W.H.:
Heterologous transplantation of human tumors.
CANCER RES. 12 : 1955 / 408 - 412

- 48 Hildemann, W.H.:
Immunological properties of small blood lymphocytes
in the graft-versus-host reaction in mice.
TRANSPLANTATION 2,1 : 1964 / 38
- 49 Hoch-Ligetti C., Hsü Y.T.:
Heterotransplantation of human tumors into cortisone -
treated rats.
SCIENCE 117 : 1953 / 360 - 361
- 50 Hoehn R.J., Simmons R.L.:
Immunosuppressive drugs combined with heterologous anti-
lymphocyte serum for allograft prolongation.
TRANSPLANTATION 5 : 1967 / 1409 - 1415
- 51 Howes E.L.:
Cortison and homologous transplantations of tumors.
YALE J. BIOL. & MED. 23 : 1961 / 454 - 461
- 52 Iwasaki Y., Porter K.A., Amend J.R., Marchioro T.L.,
Zühlke V., Starzl T.E.:
The preparation and testing of horse antidog and anti-
human antilymphoid plasma or serum and its protein
fractions.
SURG. GYNEC. OBSTET. 124 : 1967 / 1 - 24
- 53 James K.:
Antilympocytic serum - its constitution, effect and
mode of action.
PROC. ROY. SOC. MED. 63 : 1970 / 951 - 953

54 Jeejeebhoy H.F.:

Immunological studies on the rat thymectomized
in adult life.

IMMUNOLOGY

9 : 1965 / 417 - 425

55 Jeejeebhoy H.F.:

The relationship of lymphopenia production and
lymphocyte agglutinating and cytotoxic antibody
titers to the immunosuppressive potency of hetero-
logous antilymphocyte plasma.

TRANSPLANTATION

5 : 1967 / 1121 - 1126

56 Kaliss N., Kandutsch A.A.:

Acceptance of tumor homografts by mice injectet with
antiserum. I. Activity of serum fractions.

PROC. SOC. EXP. BIOL. & MED.

91 : 1956 / 115 - 121

57 Kaliss N.:

The survival of homografts in mice pretreated with
antisera to mouse tissue.

ANN. N.Y. ACAD. SCI.

64 : 1957 / 977 - 990

58 Kaliss N.:

Immunoligical enhancement of tumor homografts in mice.
A review.

CANCER RES.

18 : 1958 / 992 - 1003

59 Kaufmann J., Lichtenauer P.:

Über die heterologe Transplantation von menschlichem
Blasenkarzinom.

UROLOGE

6 : 1966 / 286 - 292

- 60 Koller S.:
Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer
Zahlen.
STEINKOPF - VERLAG, 4. AUFL., DARMSTADT 1969
- 61 Kuschinsky G., Lüllmann H.:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
3. AUFL. S. 195 GEORG THIEME VERLAG, STUTTGART
- 62 Lampert F., Karsch P., Goldenberg D.M.:
Chromosomen von heterolog und homolog transplantierten
Human- und Hamstertumoren.
ARCH. GESCHWULSTFORSCH. 32 : 1968 / 309 - 321
- 63 Lessof:
Antilymphocytic serum - the possible clinical
applications.
PROC. ROY. SOC. MED. 63 : 1970 / 954 - 955
- 64 Lie T.S.:
Beitrag zur immunsuppressiven Therapie bei der
experimentellen und klinischen Lebertransplantation.
ZBL. CHIR. 95 : 1970 / 1001 - 1008
- 65 Lindenschmidt W.:
Versuche zur Heterotransplantation gynäkologischer
Tumoren.
KLIN. WSCHR. 34 : 1956 / 977 - 978

66 Lumb G. N., Symes M.O.:

On the value of thymectomy in adult mice as a means of potentiating the immunosuppressive action of Melaphan.

IMMUNOLOGY 9 : 1965 / 575 - 580

67 Medawar P.B.:

Behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits.

J. ANAT. LOND. 78 : 1944 / 176 - 199

68 Medawar P.B.:

Second study of behaviour and fate skin homografts in rabbits.

J. ANAT. LOND. 79 : 1945 / 157 - 176

69 Medawar P.B.:

Immunity to homologous grafted skin. III. The fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue and to the anterior chamber of the eye.

BRIT. J. EXP. PATH. 29 : 1958 / 50 - 69

70 Medawar P.B., Lance E.M.:

Induction of tolerance with antilymphocytic serum.

TRANSPLANTATION PROC. 1 : 1969 / 429 - 432

71 Mechnikoff E.:

Études sur la resorption des cellules.

ANN. INST. PASTEUR, PAR. 13 : 1899 / 737

- 72 Möller G.:
Prolonged survival of allogeneic (homologous)
normal tissues in antiserum - treated recipients.
TRANSPLANTATION 2 : 1964 / 281 - 285
- 73 Müller - Ruchholtz W.:
Grundlagen der Transplantationsimmunologie
DTSCH. MED. WSCHR. 8 : 1971 / 347 - 353
- 74 Murphy H.B.:
Transplantability of malignant tumors to the embryos
of a foreign species.
J. A. M. A. 59 : 1912 / 874 - 875
- 75 Murphy J.B., Sturm E.:
Conditions determining transplantability of tissues
in brain.
J. EXP. MED. 38 : 1923 / 183 - 197
- 76 Nagaya H., Sieker H.O.:
Allograft survival: Effekt of antisera to thymus
glands and lymphocytes.
SCIENCE 150 : 1965 / 1181 - 1182
- 77 Patterson W.B., Chute R.N., Sommers S.C.:
Transplantation of human tumors into cortisone-
treated hamsters.
CANCER RES. 14 : 1954 / 656 - 659

- 78 Patterson W.B., Patterson H.R., Chute R.N.:
Transplantable human cancers
CANCER 10 : 1957/ 1281 - 1292
- 79 Pappenheimer A.M.:
Experimental studies upon lymphocytes - II, the
action of immune sera upon lymphocytes and small
thymus cells.
J.EXP. M. 26 : 1917 / 163
- 80 Pepper F.J.:
Transplantation of thymic tissue in inbred strains
of mice.
J. ENDOCR. 22 : 1961 / 349
- 81 Perlick E., Arndt I., Helbig W.:
Hämatologie: Lymphatisches und retikulohistio-
cytäres System.
MÜNCH. MED. WSCHR. 3 : 1971 / 96 - 106
- 82 Pfanzagl J.:
Allgemeine Methodenlehre der Statistik II.
SAMMLUNG GÖSCHEN BD. 747/a, BERLIN 1966
- 83 Phillips B., Gazet J.C.:
Antibody response to tumour xenografts in mice
treated with antilymphocyte serum.
NATURE 228 : 1970 / 369 - 370

- 84 Pichlmaier H., Brendel W.:
Experimentelle Gesichtspunkte zur Organtransplantation.
KLIN. WSCHR. 44 : 1966 / 57 - 66
- 85 Pichlmaier H., Treppel F.W.:
Die Beeinflussung der Homotransplantatreaktion durch extrakorporale Bestrahlung des Blutes an Ratte und Hund.
LANGENBECKS ARCH. KLIN. CHIR. 316 : 1966/ 537 - 541
- 86 Pichlmayr R.:
Wirkung des heterologen Antilymphozytenserums auf die Transplantatabstoßung beim Hund.
KLIN. WSCHR. 44,1 : 1966 / 594 - 595
- 87 Pichlmayr R.:
Untersuchungen über heterologe Antilymphozytenserum und deren Bedeutung für die Organtransplantation.
LANGENBECKS ARCH. KLIN. CHIR. 316 : 1966 / 542 - 546
- 88 Pichlmayr R., Brendel W., Beck G., Schmitt diel E., Tidow G., Pichlmayr I.:
Herstellung heterologer Immunsereen gegen Lymphozyten des Hundes.
KLIN. WSCHR. 45 : 1967 / 199 - 204

- 89 Pisano J.C., Patterson J.T., Di Luzio N.R.:
Depression of phagocytic activity of the reticuloendothelial system by antilymphocytic serum.
PROC. SOC. EXP. BIOL. & MED. 132 : 1969 / 517 - 523
- 90 Prehn R.T.:
Tumorspecific antigens and the homograft reaction.
AMER. J. SURG. 105 : 1963 / 184
- 91 Reis H.E.:
Die Bedeutung der Immunsuppression für die Entstehung und das Wachstum maligner Geschwülste.
DTSCH. MED. WSCHR. 96 : 1971 / 170 - 174
- 92 Riedel B., Kult K.:
Heterotransplantation menschlicher Harnblasenpapillome.
UROLOGE 2 : 1970 / 77 - 79
- 93 Russell P.S., Monaco A.P.:
The biology of tissue transplantation
NEW Engl. J. MED. 221 : 1964 / 502 - 510
221 : 1964 / 553 - 562
221 : 1964 / 610 - 615
221 : 1964 / 664 - 671
221 : 1964 / 710 - 725
221 : 1964 / 776 - 783
- 94 Russell P.S., Monaco A.P.:
Heterologous antilymphocyte sera and some of their effects.
TRANSPLANTATION 5 : 1967 / 1086 - 1099

- 95 Sachs J.H., Filippone D.R., Hume D.M.:
Studies of immune destruction of lymphoid tissue.
TRANSPLANTATION 2 : 1964 / 60
- 96 Senge T., Reis H.E., Lucius M., Richter K.D.:
Transplantation von menschlichem Prostataadenomgewebe auf neugeborene Ratten.
Z. KREBSFORSCH. 74 : 1970 / 274 - 278
- 97 Severi L.:
Immunity and tolerance in oncogenesis.
GROWTH 33 : 1969 / 371 - 379
- 98 Sherman J.D., Adner M.M., Dameshek W.:
Effects of thymectomy on the golden Hamster.
Mesocricetus Auratus. I. Wasting disease.
BLOOD 22 : 1963 / 252 - 271
- 99 Sherman J.D., Adner M.M., Dameshek W.:
Effects of thymectomy on the golden hamster
(Mesocricetus Auratus). II Studies on the immune
response in thymectomized and splenectomized non-
wasted animals.
BLOOD 23 : 1964 / 375 - 388
- 100 Snell G.D.:
The immunogenetics of tumor transplantation
CANCER RES. 12 : 1952 / 543 - 546

- 101 Sommers S.C., Sullivan B.A., Warren S.:
Heterotransplantation of human cancer.
II. Chorioallantoic membranes of embryonated eggs.
CANCER RES. 12 : 1952 / 915 - 917
- 102 Sommers S.C., Chute R.N., Warren S.:
Heterotransplantation of human cancer.
I. Irradiated rats.
II. Hamster cheek pouch.
CANCER RES. 14 : 1952 / 909 - 911
/ 912 - 914
- 103 Suvatte V., Githens J.H., Colofiore J.:
Modification of the graft-versus-host reaction
by antilymphocyte serum.
TRANSPLANTATION 6 : 1960 / 826 - 832
- 104 Schmähl D., Stutz E.:
Abhängigkeit der Tumorenentwicklung bei Ratten nach
intravenöser Injektion des Yoshida - Ascites -
Sarkoms von vorausgegangener Röntgen -Ganzkörper-
bestrahlung.
NATURWISSENSCHAFTEN 49 : 1962 / 424 - 425
- 105 Schmähl D., Osswald H., Prochotta L.:
Quantitative Untersuchungen an Ratten über die Resistenz
verschiedener Organe gegen inoculierte Tumorzellen.
Z. KREBSFORSCH. 70 : 1967 / 130 - 137

- 106 Schmähl D.:
Entstehung, Wachstum und Chemotherapie maligner
Tumoren.
EDITOR CANTOR, 2. AUFL. AULENDORF i. W., 1970
- 107 Schneeweiß U.:
Experimentelle und klinische Probleme zur Immunologie
des Krebses.
ARCH. GESCHWULSTFORSCH. 32 : 1968 / 108 - 114
- 108 Schwarz R., Stack J., Dameshek W.:
Effect of 6 - mercaptopurine on antibody production.
PROC. SOC. EXP. BIOL. & MED. 99 : 1958 / 164 - 167
- 109 Starzl T.E., Marchioro T.L., Hutchison D.E.,
Porter K.A., Cerilli G.J., Brettschneider L.:
The clinical use of antilymphocyte globulin in
renal homotransplantation
TRANSPLANTATION 5 : 1967 / 1100 - 1105
- 110 Starzl T.E., Marchioro T.L., Porter K.A.,
Iwasaki Y., Cerilli G.J.:
The use of heterologous antilymphoid agents in
canine renal and liver homotransplantation and
in human renal homotransplantation.
SURG. GYNEC. OBSTET. 124 : 1967 / 301 - 318

- 111 Terasaki P.S.:
Identification of the type of blood cell responsible
for the graft-versus-host reaction in chicks.
J. EMBRYOL. EXP. MORPH. 7 : 1959 / 394
- 112 Thiele H.G.:
Immunologische Aspekte in der experimentellen Onkologie.
Münch. Med. WSCHR. 10 : 1971 / 333 - 338
- 113 Toolan H.W.:
Successful growth and serial transplantation of human
tumors in rats and mice, irradiated by X-rays.
CANCER RES. 11 : 1951 / 285 - 286
- 114 Toolan H.W.:
Successful subcutaneous growth and transplantation of
human tumors in X-irradiated laboratory animals.
PROC. SOC. EXPER. BIOL & MED. 77 : 1951 / 572 - 576
- 115 Toolan H.W.:
Conditioning of host.
J. NAT. CANCER INST. 14 : 1953 / 745 - 767
- 116 Toolan H.W.:
Transplantable human neoplasms maintained in cor-
tisonetreated laboratory animals.
CANCER RES. 14 : 1954 / 660 - 666

- 117 Wilson C.B., Barker M.:
Intrathecal transplantation of human neural tumors
to the Guinea pig.
J. NAT. CANCER INST. 41 : 1968 / 1229 - 1235
- 118 Witte S., Goldenberg D.M., Breining H.:
Beobachtungen über das heterologe Wachstum eines
neuen menschlichen Ovarialkarzinoms im Goldhamster
MED. WELT 27 : 1966 / 1453 - 1458
- 119 Woidwod A.J.:
The production of antilymphocytic serum.
PROC. ROY. SOC. MED. 63 : 1970 / 949 - 950
- 120 Woodruff M.F.A., Anderson N.F.:
The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct
fistula and administration of antilymphocytic serum
on the survival of skin homografts in rats.
ANN. N.Y. ACAD. SCI. 120 : 1964 / 119 - 128
- 121 Yoshida T.:
Zelluläre Multizentrität der Krebsentstehung.
DTSCH. MED. WSCHR. 46 : 1963 / 2229 - 2238
- 122 Yutaka Tsukada:
An experimental study on the effect of blood or blood
component transfusion to the transplanted tumor cells.
GANN 61 : 1970 / 105 - 120

- 123 Zilber L.A.:
Spezific tumor antigens.
ADVANC. CANCER RES. 5 : 1950 / 291 - 330
- 124 Zlotnick A., Robinson E.:
Greffes de lymphocytes leucémiques humains dans la
poche jugule du hamster.
REV. FRANC. ETUDE CLIN. & BIOL. 10 : 1965 / 750 - 753
- 125 Zukosi, C.F., Callaway J.M., Rhea W.G.:
Tolerance to a canine renal homograft induced by
prednisolone.
SURG. FORUM 14 : 1963 / 208

H L E B E N S L A U F

I. Persönliche Verhältnisse:

- | | |
|-------------------|---|
| 1) Name: | Rupp |
| 2) Vorname: | Erbo-Heinz-Friedrich |
| 3) Geburtstag | 3.06.1942, Wittlich |
| und -ort: | |
| 4) Familienstand: | ledig |
| 5) Konfession: | römisch-katholisch |
| 6) Eltern: | Adolf Rupp, Zahnarzt und
Ehefrau Gertrud, geb. Winkler |

II. Schulbildung

- | | |
|-----------------|---|
| 1) Grundschule: | Von 1949 bis 1953 kath.
Volksschule St. Markus, Wittlich. |
| 2) Gymnasium: | Von 1953 bis 1960 Neusprachliches Gymnasium Wittlich.
Von 1960 - 1964 Neusprachliches Gymnasium Boppard mit Ablegung der Reifeprüfung am 24. 2. 1964 |

III. Berufsausbildung:

- | | |
|------------|--|
| 1) Studium | Beginn des Studiums der Zahnheilkunde im Sommersemester 1964 an der medizinischen Fakultät der Universität in Köln. Weiterführung des Studiums im Wintersemester 1964/65 an der Johannes |
|------------|--|

Gutenberg-Universität in
Mainz. Dort Ablegung der
zahnärztlichen Vorprüfung
am 25. 7. 1967.

Staatsexamen in Mainz am
11. 9. 1970.

2) Beruf:

Zur Zeit Leiter der Zahn-
station der Technischen
Marineschule II in Brake an
der Unterweser.

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Orestano für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei meiner Arbeit recht herzlich bedanken. Mein Dank gilt ferner Herrn Prof. Dr. Berger für seine Hilfe auf dem statistischen Gebiet dieser Arbeit.

